



DECOLORING OF DYE AND MICROORGANISM HAVING DYE-DECOMPOSITION ACTIVITY

Patent number: JP63216472
 Publication date: 1988-09-08
 Inventor: FUKUNAGA NOBUYUKI; HORIKOSHI KOKI
 Applicant: JAPAN RES DEV CORP.; FUKUNAGA NOBUYUKI; HORIKOSHI KOKI
 Classification: C02F3/34; C12N1/20; C12R1/05
 - international:
 - european:
 Application number: JP19870048661-19870305
 Priority number(s): JP19870048661 19870305

[View INPADOC patent family](#)

[Report a data error here](#)

Abstract of JP63216472

PURPOSE: To enable biochemical decoloring of a dye-containing waste liquid in high efficiency even in alkaline state, by using a novel dye-decomposing microorganism belonging to Alcaligenes genus. **CONSTITUTION:** Dye is decolorized by treating a dye-containing substance with Alcaligenes sp. RB-1 (FERM P-9183) having optimum pH of 9 and auxotrophic nature and capable of decomposing dyes. The decoloring treatment using said microorganism is preferably carried out at 37 deg.C and pH 8-9.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

[Quick Search](#)

[Advanced Search](#)

[Number Search](#)

[Last Results list](#)

[My patents list](#)

[Classification Search](#)

[Get assistance](#)

Quick Help

- » Why are some tabs deactivated for certain documents?
- » Why does a list of documents with the heading "Also published as" sometimes appear, and what are these documents?
- » What does A1, A2, A3 and B stand for after an EP publication number in the "Also published as" list?
- » What is a cited document?
- » Why do I sometimes find the abstract of a corresponding document?
- » What is a mosaic?

BEST AVAILABLE COPY

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-216472

⑪ Int. Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 昭和63年(1988)9月8日
 C 12 N 1/20 8515-4B
 C 02 F 3/34 Z-7308-4D
 //(C 12 N 1/20
 C 12 R 1:05) 6712-4B 審査請求 未請求 発明の数 2 (全6頁)

⑭ 発明の名称 染料の脱色方法及び染料分解能を有する微生物

⑮ 特 願 昭62-48661

⑯ 出 願 昭62(1987)3月5日

⑰ 発 明 者 福 永 信 幸 東京都新宿区北新宿1-13-26
 ⑱ 発 明 者 掘 越 弘 毅 東京都練馬区桜台4-39-8
 ⑲ 出 願 人 新 技 術 開 発 事 業 団 東京都千代田区永田町2丁目5番2号
 ⑳ 出 願 人 福 永 信 幸 東京都新宿区北新宿1-13-26
 ㉑ 出 願 人 掘 越 弘 毅 東京都練馬区桜台4-39-8
 ㉒ 代 理 人 弁 理 士 平 木 祐 輔

明 細 書

1. 発明の名称

染料の脱色方法及び染料分解能を有する微生物

2. 特許請求の範囲

1. アルカリゲネス属に属し、染料分解能を有する微生物を染料含有物質に作用させることを特徴とする染料の脱色方法。
2. 染料含有物質が、モノアゾ系、ジアゾ系、アントラキノン系、トリフェニルメタン系、メチン系、モノアゾ系ポリマーの染料含有物質であることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の染料の脱色方法。
3. アルカリゲネス属エスピー・RB-1菌を炭素源、窒素源などの栄養物質を含む染料含有物質に接種し、培養することを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の染料の脱色方法。
4. 培養を静置培養でおこなうことを特徴とする特許請求の範囲第3項記載の染料の脱色方法。
5. アルカリゲネス属エスピー・RB-1菌の培養物又は菌体を染料含有物質に添加することを

特徴とする特許請求の範囲第1項記載の染料の脱色方法。

6. 最適生成 pH が 9 前後で栄養要求性を有し、かつ、染料分解能を有するアルカリゲネス属エスピー・RB-1 菌。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、微生物を利用し、染料含有物質を化学的に脱色する方法及びそれに使用する染料分解能を有する微生物に関する。

(従来の技術)

工業废水の中には、着色成分を含み、その処理過程に脱色工程を必要とするものが数多くあり、その廃液の種類によりさまざまな処理法が研究されてきた。特に染料製理工業で発生する染料廃液のように染料を含有している廃水は一般的にも汚染係が高く、BOD、CODなどの規制のほか、着色も重要な問題となっている。染料含有廃液の脱色法としては、塩素処理法還元脱色法、活性炭を用いた方法、凝集沈澱法、活性汚泥法などがあ

る。そして微生物による脱色法に関する研究も数多くあり、リステリア (Listeria) 属、バチルス (Bacillus) 属、シュードモナス (Pseudomonas) 属、ストレプトコッカス (Streptococcus) 属や糸状菌等を用いた報告があるが、いずれも処理の至適 pH が酸性から中性付近であり、特に、アルカリ性の廃液に対しては塩素系脱色剤を用いても、目的とする効果が得られない場合もあり、一端、酸を用いて廃液の pH を酸性から中性に低下させて処理する必要を有する。

このように、特に微生物を用いた脱色法に関しては、酸性および中性を至適 pH とする微生物を用いるものがほとんどであり、中性からアルカリ性を至適 pH とする微生物を用いた染料の脱色法はないのが現状である。

〔発明の目的〕

染料を含有する廃液に対し、特にアルカリ性の廃液においても生育および脱色可能な好アルカリ性のアルカリゲネス (Alcaligenes) 属エスピー・RB-1 を用いることにより脱色を行うためのもの

である。

〔発明の内容〕

好アルカリ性のアルカリゲネス (Alcaligenes) 属エスピー・RB-1 菌株は、工業技術院微生物工業研究所に寄託され、受託番号は微工研菌寄第 9183 号である。本菌の菌学的性質は下記の通りである。

形 態

大きさは 0.7 ~ 1.0 × 3.0 ~ 5.0 ミクロンの桿菌であり多形性はない。運動性があり周鞭毛を有する胞子は形成しない。グラム染色性は陰性である。各培地における生育状態は次の通りである。

生 育 状 態

肉汁寒天平板	生育する
肉汁液体培地	生育する
肉汁ゼラチン穿刺培地	液化する
ペプトン水	ほとんど生育せず
リトマスミルク	リトマス色素が脱色

される、菌の生育は認められる

温度 20℃ ~ 47℃ 最適温度 37℃ ~ 40℃

なお、本菌の生育 pH 及び最適 pH は、次のように測定した。

培 地

グルコース	1 (%)
酵母抽出物	0.1
リン酸二カリウム塩 (K ₂ HPO ₄)	0.1
硫酸マグネシウム 7 水和物 (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.02

上記の培地組成に対し、0.1M Na₂CO₃ および 0.1 M H₂BO₃-KCl を用いて pH 6 から 10 までの培地を調整し、濾過滅菌により培地を滅菌した後、RB-1 菌の懸濁液を 1% 加えた後、37℃ で 20 時間振盪培養を行った。培養終了後、日立 220A 分光光度計を用い、培養液の 660nm の吸収を測定し、その対数をもって生育量とした (濁度法)。その結果を第 1 図に生育 pH 曲線として図示する。

生理学的性質

1) 硝酸塩の還元	還元する
2) 脱窒反応	-
3) MR テスト	-
4) VP テスト	-
5) インドール生成	-
6) 硫化水素の生成	+
7) デンプンの加水分解	+
8) クエン酸の利用	+
9) 無機窒素源の利用	-
10) 色素の生成	-
11) ウレアーゼ	-
12) オキシダーゼ	+
13)カタラーゼ	+

1) クリステンセン培地では陽性、ゴザー培地およびシモンズ培地では陰性

14) 生育の範囲 pH 6 ~ 10.5 最適 pH 9 前後

15) 酸素に対する態度	好気性
16) OFテスト	-/-
ヒューレイフソン培地を用いると-/-	
ヒューレイフソン培地にYeast extract 0.1%を加えるとわずかに+/- (酸化)	
17) 糖類から酸及びガスの生成の有無	(1)
L-アラビノース	-
D-キシロース	-
D-グルコース	-
D-マンノース	-
D-フラクトース	-
D-ガラクトース	-
麦芽糖	-
ショ糖	-
乳糖	-
トレハロース	-
D-ソルビット	-
D-マンニット	-
イノシット	-

と考えられるが、栄養要求性を有し、糖を炭化することからアルカリゲネスフェカリス (*Alcaligenes faecalis*) とは明らかに相違しており、又、脱色能を有する好アルカリ性のアルカリゲネス (*Alcaligenes*) 属の微生物に関しては、報告が全く見られないことから、アルカリゲネス (*Alcaligenes*) 属に属する一新種又は変異株と考えられ、アルカリゲネス (*Alcaligenes*) sp. RB-1 菌と命名した。

本発明を実施するに際してはRB-1 菌を染料を含有する溶液に直接接種して培養してもよく、又、予め培養した菌体を染料を含有する溶液に添加してもよい。

被処理物としては、モノアゾ系、ジアゾ系、アントラキノン系、トリフェニルメタン系、メチン系、モノアゾ系ポリマー等の色素を含む水溶液、工場废水、下水等が挙げられる。RB-1 菌を直接接種して脱色を行う際は、色素を含む水溶液にグルコース 1%、酵母抽出物 0.5%、 K_2HPO_4 0.1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02% を添加し、 Na_2CO_3 により pH を 10.5 付近に調整した後、37℃ で培養し、

グリセリン -
デンプン -

OFテストおよび糖からの酸およびガスの生成の有無に関しては窒素源としてペプトンを使用しており、この際、菌の生育はみられず、いずれの糖も炭化できない。しかし、本菌はグルコース 1%、 K_2HPO_4 0.1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02%、 Na_2CO_3 1% を含む基本培地に対し、カザミノ酸 (アミノ酸不含有) を加えても生育は見られないが、酵母抽出物を加えることで良好な生育が見られることから栄養要求性を有する菌であることが明らかである。従って、栄養要求性を満たすことにより、グルコース、マンノース、ショ糖、トレハロース、マンニット、でんぷんをよく炭化するとともにガラクトース、ラクトースも若干炭化した。しかし、この場合にも酸溶性は示さなかった。

本菌はグラム染色陰性の桿菌であり、運動性があり周鞭毛を有し好気性であること、オキシダーゼ、カタラーゼがともに陽性で糖の分解も弱いこと等からアルカリゲネス (*Alcaligenes*) 属である

脱色を行う。本菌は好アルカリ性細菌であるため、培養当初 10.5 程度であった pH を 8~9 に低下させつつ脱色を行うことができる。

RB-1 菌の菌体を用いて脱色処理を行うには、例えば、グルコース 1%、酵母抽出物 0.5%、 K_2HPO_4 0.1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02%、 Na_2CO_3 を含む液体培地に RB-1 を接種し、37℃ で 24~48 時間培養する。培養終了後、遠心分離を行い、得られた菌体を脱色処理に用いる。また、培養終了後の培養物をそのまま用いてもよい。本菌は pH 7 付近の中性においても生育するが、中性培地による継代培養を行うと、継代回数が増えるに従って生育が悪くなる。従って、被処理物の pH が中性付近で、直接菌を接種する必要性を有する際の種菌には、アルカリ性培地で培養した菌を用いることが好ましい。培養物および菌体を用いた脱色処理に要する温度は 20~47℃、pH は 7~10.5 であり、特に 37℃、pH 8~9 が好ましい。処理に要する時間は 3~72 時間である。培養物および菌体を用いた処理の際は、振盪するよりも静置状態

のような真空状態に近い環境で処理した方が好ましく、例えば振盪して処理したものに比べ、静置処理のものは脱色効率が4倍以上も優れている。従って、特に酸素の供給は必要でなく密閉系の反応槽における実施が適している。表1は染料としてメチルレッドを用い、37℃で脱色処理を行った時の振盪の影響を示すものである。この際の振盪は、振幅4cm、振幅数160回/1分間の往復振盪である。脱色率はメチルレッドの発色に由来する420nmの波長の吸光度を測定し、その減少率(%)として表した。なお、対照実験として100℃で30分間処理した菌体を用い同様の処理を行った結果、脱色は認められなかった。

したのが表2である。脱色効率は、脱色率が90%以上になるまで処理を行った上、脱色率が50%に達するのに要する時間を求め、これを脱色速度として比較した。

(本頁、以下余白)

表 1

処理時間(時間)	1	2	3
振盪	16.5	25.0	34.4
静置	72.8	84.5	98.1

本発明の脱色効率について、既知の数値と比較

表 2

染料	脱色率50%に達するまでの時間(時間)					
	RB-1	S-1 ¹⁾	S-2 ²⁾	S-3 ³⁾	S-4 ⁴⁾	Psp ⁵⁾
パラアミノアゾベンゼン	6	17	13	15	52	10
アゾオレンジ	2.5	42	22	35	46	31
ダイレクトイエロー4	30	- ⁶⁾	42	60	73	81
ダイレクトレッド28	22	-	65	>76	-	76
ベンゼンジクロロイオレット	1.5	50	-	>86	-	44

⑥ 脱色されなないもの
 菌体量 1mg/1ml 染料濃度 5×10⁻⁴mol/l

1) ~5) 引用文献
 1) Chizuko Yokono, Toshiko Ogawa, Eitichi Iida
 2) Seni Gakkaishi Vol.40 No.9 344-349 (1984)

(実施例1) 脱色法1

モノアゾ系染料であるメチルレッド 5×10⁻⁴M を含む水溶液にグルコース1%、酵母抽出物0.5%、ペプトン0.5%、K₂HPO₄ 0.1%、MgSO₄·7H₂O 0.02%を添加後、常法により殺菌後、無菌的にNa₂CO₃ 1%を添加しpHを10.5のアルカリ性にした後RB-1菌を接種し、37℃で往復振盪培養を行った。10時間培養後、菌体と培養液を遠心分離し、培養液中に含まれるメチルレッドの発色に由来する420nmの波長における吸光度を日立A220型分光光度計により測定し、その値からメチルレッドの脱色率を計算により求めた。その結果10時間の培養の結果、アルカリゲネス属RB-1の660nmにおける濁度が約2でメチルレッドの脱色率は98%に達した。

(実施例2) 脱色法2

モノアゾ系染料の脱色法

アルカリゲネス属RB-1菌をグルコース1%、酵母抽出物0.5%、ペプトン0.5%、K₂HPO₄ 0.1%、MgSO₄·7H₂O 0.02%、Na₂CO₃ 1%を含む

培地に接種し、37℃で24～48時間振盪培養を行う。モノアゾ系色素を 5×10^{-3} モル/l含む温度の水溶液に対し、予め培養したRB-1菌を1 μ g(乾燥固体)/mlになるように添加し、37℃で静置により脱色処理を行った。脱色率は実施例1と同様、各染料の発色に由来する特異的波長(メチルレッド:420nm, アシドオレンジ:500nm, パラアミノベンゼン:420nm)における吸光度から計算により求めた。表3は各モノアゾ系染料の脱色時間と脱色率との関係を示したものである。

表 3

染料	1時間	2.5時間	6時間	16時間
メチルレッド	73	91	100	100
アシドオレンジ 7	9.7	50	91	92
パラアミノベンゼン	16	17	49	84

(実施例3) 脱色法3 ジアゾ系染料の脱色法
染料にダイレクトイエロー4(400nm)、アシド

表 5

染料	脱色率(%)		
	2時間	6時間	22時間
レゾールブルーR塩	36	48	61

(実施例5) 脱色法5
トリフェニルメタン系染料の脱色

染料としてマラカイトグリーン(600nm)、ベシックバイオレット(600nm)のトリフェニルメタン系染料を用いて実施例2と同様に脱色試験を行った。その結果を表6に示す。

表 6

染料	脱色率(%)		
	1時間	6時間	16時間
マラカイトグリーン	92	95	95
ベシックバイオレット	42	54	79

レッド73(500nm)、ダイレクトレッド28(500nm)のジアゾ系染料を用いて実施例2と同様に脱色試験を行った。その結果を表4に示す。

表 4

染料	脱色率(%)			
	2時間	6時間	16時間	42時間
ダイレクトイエロー4	0	0	11	92
アシドオレンジ73	2.5	95	96	96
ダイレクトレッド28	56	17	36	96

(実施例4) 脱色法4

アントラキノン系染料の脱色法

染料としてレゾールブルーリアントブルーR塩(600nm)のアントラキノン系染料を用いて実施例2と同様に脱色試験を行った。その結果を表5に示す。

(本頁、以下余白)

(実施例6) 脱色法6

メチン系染料の脱色法

染料としてベシックオレンジ21(500nm)のメチン系染料を用いて実施例2と同様に脱色試験を行った。その結果を表7に示す。

表 7

染料	脱色率(%)		
	16時間	22時間	42時間
ベシックオレンジ21	6	15	100

(実施例7) 脱色法7

モノアゾ系ポリマー染料の脱色

染料としてPolyT-128(430nm), PolyS-119(475nm, シグマ社製Dynapol 商標登録)のモノアゾ系ポリマー染料を用いて実施例2と同様に脱色試験を行った。その結果15時間の処理でPolyT-128を31.6%、PolyS-119を75.0%脱色した。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明のアルカリゲネス属エスビー

・RB-1菌の生育pH曲線

出願人 新技術開発事業団
出願人 福永信幸
出願人 堀越弘毅
代理人 弁理士 平木祐輔

第 1 図

RB-1菌株生育pH曲線

